



B

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of :

Holger Hess-Stumpp

Serial No. : 09/961,403 ✓

Filed : September 25, 2001

For : METHOD FOR IN VITRO DIAGNOSIS OF ENDOMETRIOSIS

**SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT(S)**

Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

Submitted herewith is a certified copy of each of the below-identified document(s), benefit of priority of each of which is claimed under 35 U.S.C. § 119:

COUNTRY	APPLICATION NO.	FILING DATE
Germany	100 48 633.9	September 25, 2000

Acknowledgment of the receipt of the above document(s) is requested.

No fee is believed to be due in association with this filing, however, the Commissioner is hereby authorized to charge fees under 37 C.F.R. §§ 1.16 and 1.17 which may be required to facilitate this filing, or credit any overpayment to Deposit Account No. 13-3402.

Respectfully submitted,

Richard M. Lebovitz, Reg. No. 37,067  
Attorney/Agent for Applicants

MILLEN, WHITE, ZELANO  
& BRANIGAN, P.C.  
Arlington Courthouse Plaza 1  
2200 Clarendon Blvd. Suite 1400  
Arlington, Virginia 22201  
Telephone: (703) 243-6333  
Facsimile: (703) 243-6410

Attorney Docket No.: SCH-1789

Date: February 25, 2004



## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

**Aktenzeichen:** 100 48 633.9

**Anmeldetag:** 25. September 2000

**Anmelder/Inhaber:** Schering Aktiengesellschaft, 13353 Berlin/DE

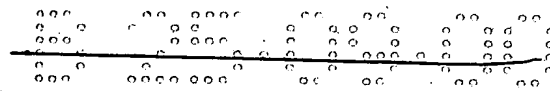
**Bezeichnung:** Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose

**IPC:** G 01 N, C 07 H, C 12 Q

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 6. Februar 2004  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
**Der Präsident**  
Im Auftrag

Dzierzon



3

## 5 Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose

Die Erfindung betrifft eine Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose.

Endometriose ist eine der häufigsten gynäkologischen Erkrankungen, von der schätzungsweise 5-10% aller Frauen im reproduktionsfähigen Alter betroffen sind (Sillem, M. 1998; Programmed® 23, Suppl. 1, 1-28). Sie ist gekennzeichnet durch das Vorkommen von Endometriumsgewebe außerhalb der physiologischen Schleimhautauskleidung des Uterus. Neben Schmerzen und zahlreichen anderen Symptomen sind viele Endometriosepatientinnen steril, und ein großer Teil der IVF-Patientinnen (IVF – in vitro Fertilisation) leidet an Endometriose (Adamson, G.D. 1997; Sem. Reprod. Biol. 15, 263-271). In jüngster Zeit mehren sich Publikationen, die für eine genetische Prädisposition bei der Entwicklung einer Endometriose sprechen (Kennedy, S. 1997; Sem. Reprod. Biol. 15, 309-318). So wurde der Verlust von Tumorsuppressormolekülen sowie familiäre Häufungen bei Endometriose-Patientinnen beschrieben.

Zur Zeit wird die Endometriose mit Hilfe der Laparoskopie diagnostiziert. Dies ist eine invasive Methode, die häufig zu Komplikationen führt (Chapron C. et al. 1998; Hum. Reprod. 13, 867-872; Jansen F. W. et al, 1997; Br. J. Obstet. Gynecol. 104, 595-600). Sie wird unter Narkose durchgeführt und setzt einen voll eingerichteten Operationssaal voraus.

Daher besteht ein Bedarf an neuen Diagnostikmethoden. Wünschenswert wäre eine Methode, die für die Patientinnen weniger belastend wäre und die vom behandelnden Arzt durchgeführt werden könnte.

Dieses Problem wird erfindungsgemäß gelöst durch die Identifizierung von bei der Endometriose differentiell regulierten Genen und die Bereitstellung einer Methode zur Detektion ihrer Genprodukte.

Die Erfindung betrifft eine Methode zur in vitro Diagnose von Endometriose wobei die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1,

5 Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV  
alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde  
Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer  
Patientinnenprobe bestimmt wird und mit der Menge an diesem Genprodukt in einer  
Kontrollprobe verglichen wird, wobei eine geringere Menge an diesem Genprodukt  
10 auf das Vorliegen einer Endometriose hinweist.

Die Gruppe der Gene wird in Abbildung 1 näher beschrieben. Die Expressionsstärke,  
d.h. die Menge des Genproduktes von mindestens einem der in Abbildung 1  
genannten Gene in einer Patientinnenprobe wird bestimmt und mit der aus einer  
Kontrollprobe (Frau ohne Endometriose) verglichen. Die zu vergleichenden Proben  
15 müssen beide aus der sekretorischen Phase, also aus dem Bereich Tag 15-28 nach  
der letzten Menstruation stammen. Eine verminderte Expressionsstärke von  
mindestens einem der o.g. Gene in der Patientinnenprobe deutet auf das Vorliegen  
einer Endometriose hin.

Eine Patientinnenprobe kann eine Probe vom Endometriumgewebe,  
20 Peritonealflüssigkeit, Blut, vaginales Sekret oder Urin der Patientin sein.

Ein Genprodukt ist entweder mRNA, die daraus abgeleitete cDNA, ein Polypeptid  
oder Teile eines Polypeptids. Die Aminosäuresequenzen der Polypeptide sind in  
Abbildung 2 dargestellt.

Die erfindungsgemäße Methode kann zur erstmaligen Diagnose von Endometriose  
eingesetzt werden. In diesem Fall wird die Menge des Genproduktes in der  
Patientinnenprobe mit einer Kontrollprobe von nicht erkrankten Frauen verglichen.  
Die erfindungsgemäße Methode kann auch zur Beurteilung des Verlaufs der  
Krankheit verwendet werden. So kann z.B. der Erfolg einer Therapie bestimmt  
werden. In diesem Fall wird die Patientinnenprobe mit einer älteren Probe derselben  
30 Patientin verglichen.

Das Genprodukt Polypeptid oder ein Teilstück eines Polypeptids wird durch  
Immunassays detektiert. Dazu werden spezifische Antikörper gegen eines oder  
mehrere Polypeptide ausgewählt aus der in Abbildung 2 beschriebenen Gruppe,  
hergestellt. Die Antikörper können monoklonal oder polyklonal sein. Sie können  
35 gegen jeweils das gesamte Polypeptid oder gegen Fragmente davon gerichtet sein.  
Die Gewinnung eines solchen Antikörpers erfolgt nach Standardmethoden durch

5 Immunisierung von Versuchstieren. Die Antikörper werden dann z.B. in einem ELISA (enzyme-linked-immunosorbent assay), in einem RIA (radioimmunoassay) oder in der Immunhistochemie zur Bestimmung der Menge des Genproduktes verwendet (Aoki, K. et al. 1996; Forensic Sci. Int. 80, 163-173).

10 Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung eines erfindungsgemäßen Antikörper-Chips zur Diagnose von Endometriose. Antikörper-Chips sind miniaturisierte Träger, meist aus Glas oder Silizium, auf deren Oberfläche Antikörper bekannter Spezifität in einem geordneten Raster in hoher Dichte immobilisiert werden. Die Detektion der Protein/Protein Interaktionen kann durch Massenspektrometrie, Fluoreszenz oder surface plasmon resonance erfolgen. Es können Antikörper, welche die aus der in  
15 Abbildung 2 beschriebenen Gruppe ausgewählten Proteine spezifisch binden, auf dem Antikörper-Chip immobilisiert sein. Methoden zur Herstellung und Verwendung von Antikörper-Chips sind in Kreider BL, Med Res Rev 2000,20:212-215 beschrieben.

20 Die Genprodukte mRNA bzw. die daraus abgeleitete cDNA können durch Hybridisierung mit Oligonukleotiden, z.B. durch einen Northern blot bestimmt werden. Diese Oligonukleotide haben Sequenzen, die komplementär zu Teilsequenzen des zu detektierenden Genproduktes sind, und können z.B. mit einer chromogenen, radioaktiven oder fluoreszierenden Gruppe markiert sein. Vor der Hybridisierung kann die cDNA mit Hilfe der PCR amplifiziert werden (Sambrook, J. et al. 1989; Cold  
25 Spring Harbor Laboratory Press).

Die Genprodukte mRNA bzw. die daraus abgeleitete cDNA können auch durch quantitative PCR (polymerase chain reaction) bestimmt werden.

Die mRNA kann auch durch *in situ* Hybridisierung mit antisense-RNA bestimmt werden. Dabei kann die antisense-RNA mit Dioxigenin, <sup>32</sup>P oder <sup>33</sup>P markiert sein.  
30 Antisense Nukleinsäure ist eine DNA und/oder RNA, die komplementär zu einer mRNA ist. Sie kann die gesamte komplementäre Sequenz oder Teilsequenzen umfassen. Diese Methode ist dem Fachmann bekannt (Barlati, S. et al. 1999; Histol. Histopathol. 14, 1231-1240).

Die Hybridisierung kann auch mit Hilfe eines DNA-Chips erfolgen. Die Erfindung  
35 betrifft daher weiterhin einen DNA – Chip, auf dem mindestens ein Oligonukleotid immobilisiert ist, das der vollständigen cDNA-Sequenz oder einer Teilsequenz bzw.

5 komplementären Sequenz eines Genes ausgewählt aus der Gruppe, die in Abbildung 1 beschrieben ist, entspricht. Die Erfindung betrifft somit ferner die Verwendung eines erfindungsgemäßen DNA-Chips zur Diagnose von Endometriose.

10 DNA-Chips, auch als DNA-Mikroarrays bekannt, sind miniaturisierte Träger, meist aus Glas oder Silizium, auf deren Oberfläche DNA-Moleküle bekannter Sequenz in einem geordneten Raster in hoher Dichte immobilisiert werden. Die Oberflächen- gebundenen DNA-Moleküle werden mit komplementären, eventuell markierten Nukleinsäuren hybridisiert. Die Markierung kann ein Fluoreszenzfarbstoff sein.

15 Bei Oligonukleotid-Chips stellen die Oligonukleotide, die auf einem erfindungsgemäßen DNA-Chip gebunden sein können, Teilsequenzen der Genprodukte (mRNA bzw. daraus abgeleitete cDNA) in der Sense- oder Antisense- Richtung dar. Es können ein oder mehrere Oligonukleotide pro Gen auf dem DNA- Chip gebunden sein. Bevorzugt sind 25 Nukleotid-lange Oligonukleotide, die aus dem nicht kodierenden Strang abgeleitet sind. Diese werden bevorzugt aus dem jeweiligen 3'untranslatierten Ende des Gens ausgewählt. Zur Detektion können 20 Oligonukleotide von einem Gen, mehreren Genen oder allen Genen ausgewählt aus der in Abbildung 1 beschriebenen Gruppe eingesetzt werden. Methoden zur Herstellung und Verwendung von DNA-Chips sind z.B. in den US-Patenten Nr. 5,578,832; 5,556,752 und 5,510,270 beschrieben.

25 Bei cDNA Chips sind die vollständigen Genprodukte (cDNAs) oder Subfragmente (200-500bp lang) auf dem Chip gebunden. Die Methode wird z. B. in Eckmann, L. et al., J Biol Chem 2000, 275: 14084-14094 beschrieben.

Das Genprodukt mRNA kann auch durch chromogene Assays bestimmt werden.

## 5 Beschreibung der Abbildungen

Abb. 1 zeigt die Liste der Gene, die in der sekretorischen Phase bei Vorliegen einer Endometriose herunterreguliert sein können und damit für eine Diagnostik der Endometriose verwendet werden können. In Spalte 1 sind die Namen und die Datenbank-Nummer (Accession Numbers) der Gene aufgelistet, die bei der Analyse als differentiell reguliert gefunden wurden. In Spalte 2 findet sich der Vergleich von Proben aus der sekretorischen Phase (sekr. Phase), jeweils *Endometriose* versus *Normal* (keine Endometriose); *down* bezeichnet den Zustand der Herunterregulation. Die erste Zahl in Klammern gibt an, wie oft das Gen als heraufreguliert und die zweite Zahl gibt an, wie oft das Gen als herunterreguliert gefunden wurde. Für diese Analyse wurden 20 Einzelvergleiche durchgeführt. In Spalte 3 findet sich der Vergleich von Proben aus der proliferativen Phase (prol. Phase). Für diese Analyse wurden 30 Einzelvergleiche durchgeführt. Die Bezeichnung *down* beschreibt den gleichen Zustand wie in Spalte 1, *nc* bedeutet *no correlation* (keine Korrelation), d.h. man findet dieses Gen sowohl herunter- als auch heraufreguliert. Die Bedeutung der Zahlen ist analog zu Spalte 2. In der vierten Spalte findet sich der Vergleich von Proben aus der sekretorischen Phase mit Proben aus der proliferativen Phase. Hier wurde Endometrium von Frauen ohne Endometriose miteinander verglichen. Für diese Analyse wurden 25 Einzelvergleiche durchgeführt. Die Bezeichnung *up* beschreibt den Zustand der Heraufregulation. Die Bedeutung der Zahlen ist analog zu Spalte 2.

Abbildung 2 zeigt eine Liste der Polypeptide, die von den in Abbildung 1 dargestellten Genen kodiert werden und bei Vorliegen einer Endometriose vermindert exprimiert werden.

## 30 Beispiele

Die in den Beispielen verwendeten molekularbiologischen Methoden wie z.B. Isolierung von RNA, Sequenzierung von DNA, RNase Protection, Northern Blot Analyse, Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden nach Standardprotokollen, wie in bekannten Lehrbüchern wie z.B. in *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*

- 5 (Sambrook, J. et al. 1989; Cold Spring Harbor Laboratory Press) beschrieben, durchgeführt. Methoden für Subtraktionsanalysen der Genexpression sind z.B. in Liang, P. und Pardee, A. B. 1995; Curr. Opin. Immunol. 7, 274-280 beschrieben.

### **Beispiel 1: Identifizierung von Endometriose-assoziierten Genen**

- 10 Gene, die mit dem Krankheitsbild der Endometriose assoziiert sind, wurden durch Vergleich von Endometriumproben folgender Patientinnengruppen identifiziert:

1. Proliferative Phase: Tage 4-14 nach der letzten Menstruation. Diese Gruppe setzte sich aus Patientinnen zusammen, bei denen aufgrund von Leiomyomen eine Hysteroskopie oder Hysterektomie durchgeführt wurde.
- 15 2. Sekretorische Phase: Tage 15-28 nach der letzten Menstruation. Diese Gruppe setzte sich aus Patientinnen zusammen, wie unter 1. beschrieben.
3. Proliferative Phase plus Endometriose: Tage 4-14 nach der letzten Menstruation. Die Patientinnen dieser Gruppe litten an Endometriose.
4. Sekretorische Phase plus Endometriose: Tage 15-28 nach der letzten
- 20 Menstruation. Die Patientinnen dieser Gruppe litten an Endometriose.

- Endometrium von Frauen mit Endometriose wurde mittels einer Strichcurettage gewonnen. Das Endometrium der Vergleichsgruppe wurde von Frauen im Rahmen einer Hysteroskopie oder einer Hysterektomie, die wegen eines Leiomyoms vorgenommen wurde, gewonnen. Das Gewebe wurde nach der Entnahme in
- 25 flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Anschließend wurde Gesamt-RNA aus den Proben extrahiert. Diese RNA wurde amplifiziert, durch einen Fluoreszenzmarker markiert, und mit einem DNA-Chip (Human SL array der Firma Affymetrix, enthaltend Oligonukleotide für ca. 7000 humane Gene) hybridisiert. Nach dem
- 30 Hybridisierungsverfahren wurde der DNA-Chip in einem Scanner analysiert. Die Hybridisierungsmuster aller Gensequenzen, die sich auf dem Chip befinden, wurden zwischen allen Proben verglichen. Insgesamt wurden 20 Einzelvergleiche mit Proben aus der sekretorischen Phase und 30 Einzelvergleiche mit Proben aus der proliferativen Phase durchgeführt bei denen jeweils eine Probe von einer Frau mit Endometriose stammte und eine Probe von einer Frau, die nicht an Endometriose litt.



- 5 Als differentiell reguliert betrachtet wurden alle diejenigen Gene, die in mindestens der Hälfte der Fälle (10 Vergleiche) um mindestens den Faktor 1.5 gegenüber der Kontrollgruppe (Proben von Frauen ohne Endometriose) herauf- oder herunterreguliert waren. Außerdem wurden 25 Einzelvergleiche von Proben aus der sekretorischen Phase mit Proben aus der proliferativen Phase durchgeführt. Hier
- 10 wurde Endometrium von Frauen ohne Endometriose verglichen.

- Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt. Die aufgelisteten Gene können als Differenzierungsmarker betrachtet werden. Ausgehend von der Betrachtung, daß die proliferative Phase, dem Namen entsprechend von proliferativen Prozessen dominiert wird, wird die sekretorische Phase eher als Differenzierungsphase
- 15 angesehen. Vor diesem Hintergrund sollten Gene, die für die Differenzierung von Bedeutung sind, während dieser Phase heraufreguliert werden (vergleiche mit Abbildung 1, Spalte 4) und während der proliferativen Phase herunterreguliert oder gleichbleibend reguliert sein (vergleiche mit Abbildung 1, Spalte 3). Die Gene, die in
- 20 Spalte 1 aufgelistet sind, erfüllen diese Kriterien und werden daher als Differenzierungsmarker bezeichnet. Dass diese Gene bei Frauen mit Endometriose herunterreguliert sind (Spalte 2), deutet auf eine gestörte Differenzierung in der sekretorischen Phase hin.

## **Beispiel 2: Diagnostik von Endometriose**

### **25 1. Probengewinnung**

Für die DNA-Chip-Analyse wird Endometriumgewebe aus Patientinnen gewonnen und Gesamt-RNA daraus isoliert. Die RNA wird dann amplifiziert und an einen Fluoreszenzmarker gekoppelt. Für den Immunttest kann Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret, Urin oder Endometriumgewebe von der Patientin gewonnen werden.

### **30 2. Detektion der Genprodukte**

#### **2a. mit Hilfe eines DNA-Chips**

Zuerst werden die geeigneten DNA-Sequenzen aus den Genen, die aus der in Abbildung 1 beschriebenen Gruppe ausgewählt werden, bestimmt. Geeignet sind Sequenzen, die mit den ausgewählten Gentranskripten hybridisieren können. Die

- 5 Oligonukleotide werden dann durch einen chemischen Prozess, der auf photolithographischen Verfahren basiert, auf dem Chip hergestellt. Dazu werden photolithographische Masken verwendet, die durch geeignete Computer-Algorithmen erzeugt wurden.

- Die markierte RNA wird mit dem Chip in einem Hybridisierungssofen inkubiert.
- 10 Anschliessend wird der Chip in einem Scanner analysiert, der die Hybridisierungsprofile bestimmt. Dadurch kann festgestellt werden, ob in der sekretorischen Phase eines oder mehrere der Gene der in Abbildung 1 aufgelisteten Gene runterreguliert ist, was auf eine Endometriose hinweist.

## 2b. durch Immuntest

- Für die Durchführung eines Immuntestes benötigt man spezifische Antikörper, die an die in Abbildung 2 beschriebenen Polypeptide binden. Die Antikörper können mono- oder polyklonale Antikörper sein, die gegen die aufgereinigten Proteine, Peptide, ausgewählt aus den kodierten Proteinen, oder rekombinant hergestellte Fragmente oder Gesamtprotein gerichtet sind.
- 20 Erfolgt die Analyse mittels Immunohistochemie verwendet man Endometrium, das der zu analysierenden Patientin entnommen wurde. Nach geeigneter Fixierung des Gewebes, z.B. mittels Formaldehyd und anschließender Einbettung in Paraffin kann das Gewebe für die immunhistochemische Analyse verwendet werden. Dazu werden von dem fixierten und eingebetteten Gewebe mit einem Mikrotom Schnitte geeigneter Dicke, z.B. 4  $\mu\text{m}$ , angefertigt. Der oder die spezifischen Antikörper werden dann mit den weiter vorbereiteten Gewebeschnitten (z.B. Deparaffinierung, Blocken) eine Zeitlang unter geeigneten Temperaturbedingungen, z.B. 1h bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Waschschritten mit einer geeigneten Lösung, z.B. PBS, werden die Schnitte in einem 2. Schritt mit einem geeigneten zweiten Antikörper
- 30 inkubiert, der für die nachfolgenden Reaktionen, z.B. biotiniliert ist. Der 2. Antikörper bindet an die für die jeweilige Spezies konstante Region des 1. Antiköpers. Nach geeigneter Inkubationszeit und Waschschritten wird nun in einem dritten Schritt die Gewebeprobe z.B. mit Horse-Redish Peroxidase, gekoppelt an Streptavidin, inkubiert. Nach geeigneter Inkubationszeit und Waschschritten wird nun in einem
- 35 letzten Schritt durch Zugabe eines geeigneten Farbstoffs, z.B. DAB, von der Peroxidase eine Enzymreaktion katalysiert, die zu einer Farbreaktion dort führt, wo

17

5 der 1. Antikörper spezifisch gebunden hat. Nach Abstoppen der Enzymreaktion und Waschschrten kann der Gewebeschnitt nun getrocknet, fixiert und mit einem Deckgläschen versehen, unter dem Mikroskop analysiert werden. Um zu entscheiden, ob in der Gewebeprobe ein quantitativer oder auch qualitativer Unterschied besteht, muß eine entsprechende Kontrolle einer Probe von einer Frau  
10 ohne Endometriose als Vergleich herangezogen werden.

Erfolgt die Analyse mittels Westernblot werden die gewonnenen Gewebeproben oder Extrakte aus der Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret oder Urin mittels einer Polyacrylamid-Gelelektrophorese aufgetrennt. Nach der Auftrennung werden die in dem Gel aufgetrennten Polypeptide durch Anlegen eines elektrischen Stroms auf  
15 eine geeignete Trägermembran, z.B. Nitrozellulose, überführt. Die auf der Trägermembran fixierten Proteine werden nun in einem 1. Schritt mit dem oder den spezifischen Antikörpern inkubiert. Nach geeigneten Waschvorgängen, z.B. mit TBS/TBST, wird die Trägermembran in einem 2. Schritt mit einem 2. Antikörper inkubiert, der an die für die jeweilige Spezies konstante Region des 1. Antiköpers  
20 bindet. Der 2. Antikörper kann eine radioaktive Markierung tragen oder ein gekoppeltes Enzym, z.B. alkalische Phosphatase, die in einer nachfolgenden Farbreaktion ein farbloses Substrat in ein farbiges Substrat umwandelt. Da die Menge des an dem Antigen gebundenen des 2. Antikörpers derjenigen des Antigens proportional ist, kann daher die Menge des gemessenen Farbstoffs für eine  
25 quantitative Analyse des oder der in dem Extrakt vorhandenen Polypeptide genutzt werden.

Erfolgt die Analyse mittels eines Festphasenimmunoassays wird der oder die spezifischen Antikörper an eine polymere Trägermatrix, z.B. Polyvinylchlorid, gebunden. Anschließend inkubiert man den oder die fixierten Antikörper mit dem  
30 Extrakt, der aus z.B. aus der Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret oder Urin gewonnen wurde. Nach geeigneten Waschvorgängen wird in einem 2. Schritt ein 2. Antikörper hinzugegeben, der an einer anderen Stelle des zu detektierenden Antigens spezifisch bindet. Der 2. Antikörper trägt z.B. eine radioaktive oder Fluoreszenzmarkierung und kann daher in einem 3. Schritt hochempfindlich  
35 nachgewiesen werden. Die an dem Antigen gebundene Menge des 2. Antikörpers ist derjenigen des Antigens proportional und kann daher für eine quantitative Analyse des oder der in dem Extrakt vorhandenen Proteine genutzt werden.

12

- 5 Erfolgt die Analyse mittels ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) wird der oder die spezifischen Antikörper an eine polymere Trägermatrix, z.B. Polyvinylchlorid, gebunden. Anschließend inkubiert man den oder die fixierten Antikörper mit dem Extrakt, der aus z.B. aus der Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret oder Urin gewonnen wurde. Nach geeigneten Waschvorgängen wird in einem
- 10 2. Schritt ein 2. Antikörper hinzugegeben, der an einer anderen Stelle des zu detektierenden Antigens spezifisch bindet. Der 2. Antikörper trägt zusätzlich noch ein gekoppeltes Enzym, z.B. eine alkalische Phosphatase. Dieses Enzym katalysiert nun in einem nachfolgenden Schritt die Umwandlung eines farblosen Substrats in ein farbiges Produkt. Es kann aber auch ein nicht-fluoreszierendes Substrat in ein
- 15 fluoreszierendes Substrat umgewandelt werden. Die Menge des farbigen oder fluoreszierenden Produkts kann kolorimetrisch gemessen werden. Da die Menge des an dem Antigen gebundenen 2. Antikörpers derjenigen des Antigens proportional ist, kann daher die Menge des gemessenen Farbstoffs oder Fluoreszenzproduktes für eine quantitative Analyse des oder der in dem Extrakt vorhandenen Polypeptide
- 20 genutzt werden.

## 5 Ansprüche

1. Methode zur in vitro Diagnose von Endometriose, dadurch gekennzeichnet, daß die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer Patientinnenprobe bestimmt wird und mit der Menge an diesem Genprodukt in einer Kontrollprobe verglichen wird, wobei eine geringere Menge an diesem Genprodukt auf das Vorliegen einer Endometriose hinweist.
2. Verwendung von Antikörpern gegen ein oder mehrere Proteine kodiert von Genen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon oder gegen Teile des Polypeptids oder der Proteine zur Diagnose von Endometriose.
3. DNA – Chip, dadurch gekennzeichnet, daß auf dem Chip mindestens ein Oligonukleotid, das eine Teilsequenz einer DNA ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon oder deren komplementären Sequenz umfaßt, gebunden ist.
4. Verwendung eines DNA-Chips nach Anspruch 3 zur Diagnose von Endometriose.

Datenbank-Nr. Name	Vergleich Endometriose versus Normal (sekr. Phase)	Vergleich Endometriose versus Normal (prol. Phase)	Vergleich sekr. versus prol. Phase (Endometrium)
X02761, fibronectin (FN precursor)	down (0 up - 16 down)	down (4 up -12 down)	up (18 up - 1 down)
S37730, insulin-like growth factor binding protein-2	down (1-15)	nc (13-13)	up (17-2)
U40271, Human transmembrane receptor precursor (PTK7)	down (0-14)	nc (6-2)	up (9-1)
M21574, platelet-derived growth factor receptor alpha (PDGFRA)	down (0-13)	nc (8-10)	up (17-0)
L22548, collagen type XVIII alpha 1 (COL18A1)	down (0-13)	down (0-8)	up (17-0)
M80482, subtilisin-like protein (PACE4)	down (1-13)	down (4-13)	up (22-2)
Z26653, laminin M chain (merosin)	down (1-13)	nc (9-10)	up (17-1)
M36860, U77846, Elastin	down (0-12)	nc (0-0)	up (25-0)
X05610, type IV collagen alpha -2 chain	down (0-12)	nc (3-3)	up (11-0)
X67325, p27 interferon alpha-inducible gene	down (1-12)	nc (9-10)	up (10-2)

Abbildung 1

**Belegexemplar**

Dart nicht geändert werden

Datenbank-Nr., Name	Vergleich Endometriose versus Normal (sekr. Phase)	Vergleich Endometriose versus Normal (prol. Phase)	Vergleich sekr. versus prol. Phase (Endometrium)
D42073, reticulocalbin	down (0-11)	nc (8-5)	up (11-2)
U07919, aldehyde dehydrogenase 6	down (1-11)	nc (13-9)	up (22-0)
U81607, gravin	down (1-11)	nc (8-7)	up (18-1)
M30269, nidogen	down (0-10)	nc (8-14)	up (15-3)
D42108, phospholipase C Epsilon	down (1-10)	nc (12-14)	up (25-0)

Abbildung 1

**Belegexemplar**  
Dan nicht geandert werden

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
1	Fibronektin	<p>MLRGPGLL LLAVQCLGTA VPSTGASKSK RQAQMVQPQ SPVAVSQSKP GCYDNGKHYQ INQQWERTYL  GNALVCTCYG GSRGFNCESK PEAEETCFDK YTGNTYRVGD TYERPCKDSMI WDCTCIGAGR GRISCTIANR  CHEGGSYKI GDTWRRPHET GGYMLECVCL GNGKGEWTCK PIAEKCFDHA AGTSYVVGET WEKPYQWMM  VDCCLGEGS GRITCTSRNR CNDQDTRTSY RIGDTWSKKD NRGNLLQCIC TNGRGEWKC ERHTSVQFTS  SGSGPFTDVR AAVYQPPHP QPPPYGHCVT DSGVVYSVGM QWLKTOGNKQ MLCTCLNGV SCQETAVTQT  YGGNSNGEPC VLPFTYNGRT FYSCITTEGRQ DGHLCWSTTS NYEQDQKYSF CTDHTVLVQT QGGSNGALC  HFFFLYNNHN YTDCTSEGRR DNKWCCTTQ NYDADQKFGF CPMAAHEEIC TTNEGVMYRI GDQWDKQHDM  GHMRCCTCVG NRGGEWTCIA YSQLRDQCIY DDITYNVNDT FHKRHEEGHM LNCTCFGQGR GRWKCDPVDQ  CQDSETGTFY QIGDSWEKYV HGVRYQCYCY GRGIGEWHCQ PLQTYPSSSG PVEVFITETP SQPNSHPIQW  NAPQSHISK YILWRPKNS VGRWKEATIP GHILNSYTIKG LKPGVVYEGQ LISIQQYGHQ EVTRFDFTTT  STSTPVTSTNT VTGETTPFSP LVATSESVTE ITASSFVSW VSASDTSVGF RVEYELSEEG DEPOYLDLPS  TATSVNI PDL LPGRKYIVNV YQISEDGEQS LILSTSQTTA PDAPPDPTVD QVDDTSIVVR WSRPQAPITG  YRIVYSPSVE GSSTELNLPE TANSVTLSDL QPGVQYNITI YAVEENQEST PVVIQOETTQ TPRS DTVPS  RDLQFVEVTD VKVTIMWTPP ESAVTGYRVD VIPVNLPEH GORLPISRNT FAEVTGLSPG VTYFFKVFAY  SHGRESKPLT AQOTTKLDAP TNLQFVNETD STVLVRWTPP RAQITGYRLT VGLTRRGQPR QYNVGPVSVK  YPLRNLPAS EYTVSLVAIK GNOESP KATG VFTTLQPGSS IPPYNTTEVTE TTIVITWTPA PRIGFKLGVR  PSQGGEAPRE VTSDSGSIVV SGLTPGVEYV YTIQVLRDQQ ERDAPIVNVK VTPLSPTNL HLEANPDITGV  LTVSWERSTT PDITGYRITT TPTNGQQGNS LEEVHADQS SCTFDNLSPG LEYNVSIVTV KDDKESVPIS  DTIIPAVPPP TDLRFTNIGP DTMRTWAPP PSIDL TNFLV RYSPVKNEED VAEISISPSD NAVLTLNLLP  GTEYVVS VSS VVEQHESTPL RGRQKTGLDS PTGIDFSDIT ANSFTVHWIA PRATITGYRI RHHPEHFSGR  PREDRVPHSR NSITLTNLTP GTEYVVSIVA LNGREESPLL IGQOSTVSDV PRDLEVVAAT PTSLLISWDA</p>

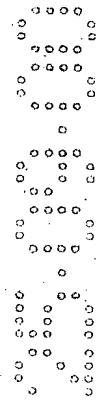


**Belegexemplar**  
Dart nicht geändert werden

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		PAVTVYYRI TYGETGNSP VQFTVPGSK STATISGLKP GVDYITITVYA VTGRGDSPAS SKPISINYRT EIDKPSQMQR TDVQDNSISV KWLPSSTPVT GYRVTTTPKN GPGPTTKTKTA GPDQTEMTIE GLQPTVEYVV SVYAQNPSGE SQPLVQTAVT NIDRPKGLAF TDVDVDSIKI AWESPQGQVS RYRVITYSSPE DGIHELFPAP DGEEDTAELQ GLRPGSEYTV SVVALHDDME SQPLIGTQST AIPAPTDLKF TQVTPTSLSA QWTPPNVQLT GYRVRVTPKE KTGPMKEINL APDSSSVVVS GLMVATKYEV SVYALKDILT SRPAQGVVTT LENVSPPRRRA RVTDATETTI TISWRTKTET ITGFQVDVAVP ANGQTPPIQRT IKPDVRSYTI TGLQPGTDYK IYLYTLNDNA RSSPVVIDAS TAIDAPSNLR FLATTPNSLL VSWQPPRARI TGYIIKYEKP GSPPREVVPR PRPGVTEATI TGLEPGTEYT IYVIALKNNQ KSEPLIGRKK TDELPQLVTL PHPNLHGPEI LDVPSTVQKT PFVTHPGYDT GNGIQLPGTS GQQPSVGQQM IFEEHGFRT TPPTTATPIR HRPRPYPPNV GEEIQIGHIP REDVDYHLYP HGPGLNPNAS TGOEALSQTT ISWAPFQDTS EYIISCHPVG TDEEPLQFRV PGTSTSATLT GLTRGATYNI IVEALKDQQR HKVREEVTV GNSVNEGLNQ PTDDSCFDPY TVSHYAVGDE WERMSESGFK LLCQCLGFGS GHFRCDSSRW CHDNGVNYKI GEKWDQGEN GQMMSCITLG NGKGEFKCDP HEATCYDDGK TYHVGQWQK EYLGAICTCT CFGGQRGWRC DNCRRPGGEP SPEGTTGQSY NQYSORYHOR TNTNVNCPIC CFMPLDVQAD REDSRE
2	Insulin-like growth factor binding protein-2	MLPRVGCAL PLPPPLPLPL LPLLLLLLGA SGGGGGARAE VLFRCPPCTP ERLAACGPPP VAPPAVAAV AGGARMPCAE LVREPGCGCC SVCARLEGEA CGVYTPRCGQ GLRCYPHPGS ELPLOALVMG EGTCEKRRDA EYGASPEQVA DNGDDHSEGG LVENHVDSTM NMLGGGGSAG RKPLKSGMKE LAVFREKYTE QHRQMKGKGGK HHLGLEEPKK LRPPPARTPC QQELDQVLER ISTMRLPDER GPLEHLYSLH IPNCDKHGLY NLKQCKMSLN GORGEWCVN PNTGKLIQGA PTIRGDPECH LFYNEQQEAR GVHTORMQ

82



**Belegexemplar**  
Dart nicht geändert werden

5/15

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
3	Transmembrane receptor PTK7	MGAARGSPAR PRRLPLLSVL LLPLLGGTQT AIVFIKQPSS QDALQRRAL LRCEVEAGP VHVVWLLDGA PVQDTERFA QGSSLSFAAV DPLQDSGTFQ CVARDDVTGE BARSANASFN IKWIEAGPVV LKHPASEAEI QPQTQVKLRC HIDGHPRPTY QWFRDGTPLS DGQSNHTVSS KERNLTLRPA GPEHSGLYSC CAHSAFSQAC SSQNFTLSIA DESFARVULA PQDVVVARYE EAMFHCQFSA QPPSLQWLF EDETPITNRS RPPHLRRATV FANGSLLLTQ VRPRNAGIYR CIGQGQRGPP IILEATLHLA EIEDMPLFEP RVFTAGSEER VTCLPPKGLP EFSVWEHAG VRLPTHGRVY QKGHELVLN IAESDAGVYT CHAANLAGQR RQDVNITVAT VPSWLKKPQD SQLEEGKPGY LDCLTQATPK PTVVWYRNQM LISEDSRFEV FKNGLTRINS VEYDGTWYR CMSSTPAGSI EAQAVLQVLE KLKFTPPPQP QOCMGFDKEA TVPCSATGRE KPTIKWERAD GSSLPEWVTD NAGTLHFARV TRDDAGNYTC IASNGPQGI RAHVQLTVAV FITFKVEPER TTVYQGHATL LQCEAQGDPK PLIQWKGKDR ILDPTKLGPR MHIFQNGSLV IHDVAPEDSG RYTCIAGNSC NIKHTEAPLY VVDKVPVEES EGPSPPPYK MIQTIGLSVG AAVAYIIAVL GLMFYCKKRC KAKRLQKQPE GEEPMECLN GGPLONGQPS AEIQEEVALT SLGSGPAAATN KRHSTSDKMH FPRSSLQIPIT TLGKSEFGEV FLAKAQGLEE GVAETLVLVK SLQSKDEQOQ LDFRRELEMF GKLNHANVVR LLGLCREAEP HYMVLEYVDL EDLKQFLRIS KSKDEKLKSO PLSTKQKVAL CTQVALGMEH LSNRFFVHKD LAARNCLVSA QROVKVSALG LSKDVNSEY YHFRQAWVAL RWMSPEAILE GDFSTKSDVW ASGVLMWEVF THGEMPHGGQ ADDEVLIADIQ AGKARLPQPE GCPSKLYRLM QRCWALSPKD RPSFSEIASA LGDSTVDSPK
4	Platelet-derived growth factor receptor alpha	MGTSHPAFLV LGCLLTGLSL ILCQLSLPSI LPNENEKVVO LNSSFSLRCF GESEVSWQYP MSEEESDVE IRNEENNSGL FVTVLEVSSA SAAHTGLYTC YNHTQTEEN ELEGRHIYIY VPDPDVAFPV LGMTDYLIV EDDSAILPC RTTDPETPVT LHNSEGVVPA SYDSRQGFNG TFTVGPYICE ATVKGKKFQT IPFNVYALKA

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		TSSELDLEMEA LKTVYKSGET IVVTCAVFNN EVVDLQWTYP GEVKGKGITM LEEIKVPSIK LVYTLTVPEA TVKDSGDYEC AARQATREVK EMKKVTISVH EKGFEIKPT FSQLEAVNLH EVKHFVVEVR AYPFPRISWL KNNLTLIENL TEITTDVEKI QEIRYRSKLLK LIRAKEEDSG HYTTVAQNEA AVKSYTFELL TQVPSILDL VDDHHGSTGG QTVRCTAEGT PLPDIEWMIC KDIKKCNNEI SWTILANNVS NIITEIHSRD RSTVEGRVTF AKVEETIAVR CLAKNLLGAE NRELKLVAPT LRSELTVAHA VLVLVIVII SLIVLVVIWK QKPRYEIRWR VIESISPDGH EYIYVDPML PYDSRWEFPR DGLVLGRVLG SGAFGKVVEG TAYGLRSRQP VMKVAVKMLK PTARSSEKQA LMSELKIMTH LGPHLNIIVNL LGACTKSGPI YIITEYCFYG DLVNYLHKNR DSFLSHHPEK PKKELDIFGL NPADESTRSY VILSFENNGD YMDMKQADTT QYVPMLEKE VSKYSDIQRS LYDRPASYYK KSMLDSEVKN LLSDDNSEGL TLDDLSTFY QVARGMEFLA SKNCVHRDLA ARNVLLAQGK IVKICDFGLA RDMHDSNYV SKGSTFLPVK WMAPEISFDN LYTTLSDVWS YGILLWEIFS LGTTPYPGMM VDSITFYNNIK SGYRMAKPDH ATSEVYEIMV KCWNSEPEKR PSFYHLSEIV ENLLPGQYKK SYEKIHLDFL KSDHPAVARMVDSNAYIG VTYKNEEDKL KDWEGLDEQ RLSADSGYII PLPDIDPVPE EEDLGKRNHR SSQTSESAI ETGSSSTFI KREDETIEDI DMDDDIGIDS SDLVEDSFL
5	Collagen XVIII alpha 1 type	GEVGADGIPG FPGLPGREGI AGPQGPKGDR GSRGEKGDPG KDGLGQGLP GPRGPPGPV YVSEQDGSVL SVPGPEGRRG FAGFPGPAGP KGNLGSKGEL GSPGPKGEK EPGSIFSPDG GALGPAQKGA KGEPGFRGPP GLYGRPGYKG EIGFPGRPGR PGMNGLKGEK GEPGDASLGF GMRGMPGPPG PPGPPGPPGT PVYDSNVFAE SSRPGPPGLP GNQGPFGPKG PKGEVGPFGP PGQFPDFLQ KEAEMKGEK DRGDAGQKGE RGEPPGGGFF GSSLPGAPGA PGPFGYPGIP GPKGESIRGQ PGPPGQGGP GIGYEGRQGP PGPPGPPGP SFPGPHRQTI SVPGPPGPPG PPGPPGTGMA SSGQVRLWAT ROAMLGQVHE VPEGWLIFVA EQEELYVRVQ NGFRKQVLEA RTPLPRGTDN EVAALQPPV QLHDSNPYPR REHPHTARP WRADDILASP PGLPEPQYP GGPHHSSYVH CGPARPTSP AHSHRDFQPV LHLVALNSPL SSGMRGIRGA DFQCFOQARA VGLAGTFRAF LSSRLQDLYS

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
6	Subtilisin-like protein (PACE4)	<p>IVRRADRAAV PIVNLKDELL FPSWEALFSG SEGPLKPGAR IFSFDGKDVL RHPTWPQKSV WHGSDPNRRR</p> <p>LTESYCETWR TEAPSATGOA SLLGGRLLG QSAASCHHAY IVLCIENSFM TASK</p> <p>MPPRAPPAPG PRPPRAAAA TDTAAGAGGA GGAGGAGGPG FRPLAPRPWR WLLLLALPAA CSAPPPRPVY</p> <p>TNHWAVQVLG GPAEADRVAA AHGYLNLQI GNLEDYYHFY HSKTFKRSTL SSRGPHTFLR MDPQVKWLQO</p> <p>QEVKRRVKRQ VRSDPQALYF NDPIWSNMWY LHCGDKNSRC RSEMNVQAAW KRGYTGKNV VTIILDDGIER</p> <p>NHPDLAPNYD SYASYDVNGN DYDPSPRYDA SNENKHGTRC AGEVAASANN SYCIVGIAYN AKIGGIRMLD</p> <p>GDVTDVVEAK SLGIRPNYID IYSASWGPDD DGKTVDPGR LAKQAFEYGI KKGRQGLGSI FVWASNGGR</p> <p>EGDYCSCDGY TNSIYTISVS SATENGYKPY YLEECASSTA TTYSSGAFYE RKIVTTDLRQ RCTDGHGTIS</p> <p>VSAPMVAGII ALALEANSOL TWRDVQHLLV KTSRPAHLKA SDWKVNGAGH KVSHFYGFGL VDAEALVVEA</p> <p>KKWTAVPSQH MCVAASDKRP RSIPLVQVLR TTALTSACAE HSDQVVVYLE HVVVRTSISH PRRGDLQIYL</p> <p>VSPSGTKSQL LAKRLLDLSN EGFTNWEFMT VHCWGEKAEQ QWTLQIDLP SQVRNPEKQG KLKEWSLILY</p> <p>GTAHPYHTF SAHQSRSMLELSAPELEPP KAALSPSQVE VPDEEDDYTA QSTPGSANIL QTSVCHPECG</p> <p>DKGCDGNAD QCLNCVHESL GSVKTSRKCX SVCPLGYFGD TAARRCRRCH KGCETCSSRA ATQCLSCRRG</p> <p>FYHHQEMNTC VTLCFAGFYA DESQKNCLKC HPSCCKCVDE PEKCTVCKEG FSLARGSCIP DCEPGTYFDS</p> <p>ELIRCGECHH TCGTCVGPGR EECIHCAKNF HFHDWKCUPA CGEGFYPEEM PGLPHKVCRR CDENCLSCAG</p> <p>SSRNCRCRCKT GFTQLGTSCI TNHTCSNADE TFCMVKSNR LCERKLFIQF CCRTCLLAG</p>
7	Laminin M chain (Merosin)	<p>MPGAAGVLLL LLLSGGLGV QAORPQQQRQ SQAHQQRGLF PAVLNLASNA LITTNATCGE KGPMEYCKLV</p> <p>EHVPGQPVN PQCRICNQNS SNPNQRHPIT NAIDGKNTW QSPSIKNGIE YHVVTITLDL QQVFQIAYVI</p> <p>VKAANSRPG NWILERSLDD VEYKPWQYHA VTDTECLTLY NIYPRTGPPS YAKDDEVICT SFYSKIHPL</p> <p>NGEIHISLIN GRPSADDPSP ELLEFTSARY IRLRFQIRI LNADLMMFAH KDPREIDPIV TRRYYSVKD</p> <p>ISVGGMCICY GHARACPLDP ATNKSRCCE HNTCGDSCDQ CCPGFHQKPW RAGTFLTKTE CEACNCHGKA</p>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		EECYDENVA RRNLSLNIRG KYIGGGVCIN CTQNTAGINC ETCTDGFRRP KGVSPNYPRP CQCHCDPIG SLNEVCVKDE KHARRGLAPG SCHCKTGFGG VSCDRCARGY TGYPDCKACN CSGLGSKNED PCFGPCICKE NVEGGDCSRC KSGFFNLQED NWKGCDECFC SGVSNRCQSS WYTYGKIQDM SGWYLTDLPG RIRVAPQDD LDSPQQISIS NAEARQALPH SYYWSAPAFY LGNKLPAVGG QLTFTTISYDL EEEEEETERV LQLMILLEGN DLSISTAQDE VYLHPSEHT NVLLKKEESF TIHGHFPVR RKEFMTVLAN LKRVLQITY SFGMDAIFRL SSVNLESAYS YPTDGSIAAA VEVCQCPGPGY TGSSCESCW P RHRVNGTIF GGICEPCQCF GHAESCDDVT GECLNCKDHT GGPYCDKCLP GFYGEPTKGT SEDCQPCACP LNIPSNFSP TCHLDRSLGL ICDGCPVGYT GPRCERCAEG YFGQPSVPGG SCQPCQCNDN LDFSIPGSCD SLGSGCLICK PGTTGRYCEL CADGYFGDAV DAKNCQPCRC NAGGSFSEVC HSQTGQCECR ANVQGRCDK CKAGTFGLQS ARGCVPCNCN SFGSKSFDCE ESGQCWCQPG VTGKKCDRCA HGYFNFOEGG CTACECSHLG NNCDPKTGRC ICPNTIGEK CSKCAPNTWG HSITTGCKAC NCSTVGSLDF QCNVNTGQCNCN CHPKFSGAKC TECSRGHWNV PRCNLCD CFL PGTDATTCD ETKCKSCSDQ TGQCTCKVNV EGIHCDRCRP GKFGLDKPNP LGCSSCYCFG TTTQCSEAKG LIRTWVTLKA EQTILPLVDE ALQHTTTKGI VFQHPFIVAH MDLMREDLHL EPFYWKLPEQ FEGKKLMAYG GKLKYAIYFE AREETGFSTY NPQVIIRGGT PTHARIIVRH MAAPLIGQLT RHEIEMTEKE WKYYGDDPRV HRTVTREDFL DILYDIHYIL IKATYGNFMR QSRISEISME VAEQGRGTTM TPPADLIEKC DCPLGYSGLS CEACLPGFYR LRSQPGGRTP GPTLGTCTVPC QCNGHSSLCD PETSICQNCQ HHTAGDFCER CALGYYGIVK GLPNDCCQCA CPLISSNNF SPSCVAEGLD DYRCTACPRG YEGQYERCA PGYTGPSGNP GGSCQCECD PYGSLPVPCD PVTGFCTCRP GATGRKCDGC KHHWAREGWE CVFCGDECTG LLLGDLARLE QMVMSINLTG PLPAPYKMLY GLENMTQELK HLLSPQRAPE RLIQLAEGNL NTLVTMNNEL LTRATKVTAD GEQTGQDAER TNTRAKSLGE FIKELARDAE AVNEKAIKLN ETGLTRDEAF ERNLEGLQKE IDQMIKELRR KNLETQKEIA EDELVAEAL LKKVKKLFGS SRGENEEMEK DLREKLADYK NKVDDAWDLL REATDKIREA NRLFVNQKN MTALEKKKEA VESGKRQIEN TLKEGNDILD EANRLADEIN SIIDVVEDIQ TKLPPMSEEL NDKIDLSQE IKDRKLAEKV

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		SQAESHAAQL NDSSAVLDGI LDEAKNISFN ATAFAKAYSN IKDYIDEAEK VAKEAKDLAH EATKLATGPR GLLKEDAKGC LQKSFRIILNE AKKLANDVKE NEDHLNGLKT RIENADARNG DLLRTLNDTL GKLSAIPNDT AAKLQAVKDK ARQANDTAKD VLAQITELHQ NLDGLKKNYN KLADSVAKTN AVVKDPSKNK IIADADATVK NLEQEADRLI DKLKPIKELE DNLKKNISEI KELINQARKQ ANSIKVSUSS GGDCIRTYKP EIKKGSYNNI VVNVKTAVAD NLLFYLGS AK FIDFLAIEMR KGKVSFLWDV GSGVGRVEYP DLTIDDSYWY RIVASRTGRN GTISVRALDG PKASIVPSTH HSTSPPGYTI LDVDANAMLF VGGLTGKLLK ADAVRVITFT GCMGETYFDN KPIGLWNFRE KEGDCKGCTV SPQVEDSEGT ATRDLRDFMS VELTDGHIKV SYDLGSGMAS VVSNQNHNDG KWKSFLLSRI QKQANISIVD IDTNQENIA TSSSGNNFGL DLKADDKIYF GGLPTLRNLS MKARPEVNLK KYSGCLKDIE ISRTPYNILS SPDYVGVTGK CSENVYTVS FPKPGFVELS PVPIDVGTEI NLSFSTKNES GIILLGSGGT PAPRRKRRO TGOAYYVILL NRGLEVHLS TGARTMRKIV IRPEPNLFHD GREHSVHVER TRGIFTVQVD ENRRYMQNLT VEQPIEVKKL FVGAPPEFQ PSPLRNIPPF EGCINWLVIN SVPMDFARPV SFGNADIGRC AHQKLREDED GAAPAEIVIQ PEPVTPAFP TPTPVLTHGP CAASEPALL IGSQKFGLSR NSHIAIAFDD TKVKNRLTIE LEVRTEAESG LLFYMAAINH ADFATVQLRN GLPYFSYDLG SGDTHTMIPT KINDGQWHKI KIMRSKQEGI LYVDGASNRT ISPKKADILD VVGMLYVGGI PINYTTRRIG PVTYSIDGCV RNLHMAEAPA DLEQPTSSFH VGTCFANAQR GTYFDGTGFA KAVGGFKVGL DLLVEFEFAT TTTTGVLGLI SSQKMDGMI EMIDEKLMFH VDNAGRFTA VYDAGVPGHL CDGQWHKVTA NKIKHRIELT VDNQVVEAQS PNPASTSADT NDPVFVGGFP DLLKQFGLTT SIPFRGCIRS LKLTGTASH WRLILPRPWN
8	Elastin	MAGLTAAAPR PGVLLLLLSI LHPSPGGVP GAIPGGVPGG VFYPGAGLGA LGGGALPGG KPLKPVPGGL AGAGLGAGLG APPAVTFPGA LVPGGVADAA AAYKAAKAGA GLGGVPGVGG LGVSAGAVVP QPGAGVKPGK VPGVGLPGVY PGGVLPGARF PGVGLVPGVP TGAGVKPKAP GVGGAFAGIP GVGPFGGPQ GVPLGYPIKA PKLPGGYGLP YTTGKLPGY GPGGVAGAAG KAGYPTGTGV GPQAAAAA KAAAKFGAGA AGVLPVGGA

Belegexemplar

Dart nicht geändert werden

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
9	Alpha-2 type IV collagen	<p>             GVPGVGAIP GIGGIAGVGT PAAAAAATAA AKAAKYGAAA GLVPGGPGFG PGVVGVPCAG VPGVGVPGAG              IPVVPAGAGIP GAAVPGVVSP EAAAKAAAKA AKYGARPGVG VGGIPTYGVG AGGFPGFVG VGGIPGVAGV              PSVGGVPGVG GVPVGISPE AQAAAAAKAA KYGVGTTPAA AAKAAAKAAQ FALLNLAGLV PGVGVAPGVG              VAPGVGAPG VGLAPGVGVA PGVGVAPGVG VAPGIGPGV AAKAASAAKV AAKAQLRAAA GLGAGIPGLG              VGVGVPGLV GAGVPLGVG AGVPGFAGV GALAAAKAAK YGAAVPGVLG GLGALGGVGI PGGVVAGPA              AAAAAAKAA KAAQFGLVGA AGLGGLGVGG LGVPGVGGLG GIPAAAAKA AKYGAAGLGG VLGAGQFPL              GGVAARPGFG LSPIPPGGAC LGKACGRK           </p> <p>             MGRDQRAVAG PALRRWLLG TVTVGFLAQ VLAGVKKFDV PCGRDCSGG CQCYPEKGR GQPGVPVPGQ              YNGPPGLQGF PGLQGRKGD KGERGAPVGT PKGDVGARGV SGFPGADGIP GHFGQGGPRG RPYDGCNGT              QGDSGPQGGP GSEFTGPPG PQGPKGQKE RGLGFYGVKG EKGDVQPGP NGIPSDTLHP IIAFTGVTFH PDQYKGEKGS              GAPRPGPPG PPGKGGQGN RGLGFYGVKG EKGDVQPGP NGIPSDTLHP IIAFTGVTFH PDQYKGEKGS              EGEPGIRGIS LKGEEGIMGF PGLRGYPGLS GEKSPGQKG SRGLDGYQGP DGPRGPKGEA GPPGPPGLPA              YSPHPSLAKG ARGDPGFGA QGEPGSGEP GDPGLPGPPG LSIGDGDQRR GLPGEMPKG FIGDPGIPAL              YGGPPGPDGK RPPGPPGLP GPPGPDGFLF GLKAKGRAG FPGLPGSPA RPKGKWKGA GECRCGEGE              AIKGLPGLPG PKGFAGINGE PGRKGDKGD GDPGFPGLP PGDGTGKPP GDPGYPGIPG TKGTPGEMGP PGLGLPGLK              QPGVPGVPGM KGDDGSPGRD GLDGFPLPG GPAGTPGQID CDTDKRAVG GDRQEAQPG CIAGPKGLPG LPGPPGPTGA              QRGFPGDAGL PGPPGFLGPP GPAGTPGQID CDTDKRAVG GDRQEAQPG CIAGPKGLPG LPGPPGPTGA              KGLRGIPGFA GADGGPGPRG LPGDAGREGF PGPPGFIGPR GSKGAVGLPG PDGSPGIGL PGPDGPPGER              GLPGEVLGAQ PGPRGDAGVP GQPLKGLPG DRGPPGFRGS QGMPGMPGLK GQPLGPGSG QPGLYGPPL              HGFPGAPQE GPLGLPGIPG REGLPGRGD PGDTGAPGV GMKGLSGDRG DAGTGEQGH PGSPGFKGID              GMPGTPGLK DRGSPGMDGF QGMPGLKGRP GFPGSKGEAG FFGIPGLKGL AGEPPGKGR GDPGPPGPPP           </p>

24

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
10	p27	VILPMKDIK GEKDEGPMG LKGYLGAKGI QGMPGIPGLS GIPGLPGRPG HIKGVKGDIG VPGIPGLPGF PGVAGPPGIT GFPGFICSRG DKGAPGRAGL YGEIGATGDF GDIGDTINLP GRPGLKGERG TTGIPGLKGF FGEKTEGDI GFPGITGVGT VQPPGLKQG TGFPGLTGPP GSQGLGRIG LPPGKGDDGW PGAPGLPGFP GLRGIRLHG LPGTGFPGS PGSDIHGDPG FPGPPGERGD PGEANTLPGP VGVPQGKGDQ GAPGERGPPG SPGLQFPPI TPPSNISGAP GDKGAPGIFG LKGYRGPPG PGSAALPGSK GDTGNPAGP TPGTGWAGD SGPQGRPGVF GLPGEKPRG EQFEMGNTGP TGAUGDRGPK GPKGDPGFP APGTVGAPGI AGIPQKIAIQ PGTVGPQRR GPPGAPGEIG PQGPPGEPGF RGAPGKAGPQ GRGGVSAVPG FRGDEGPIGH QGPIGQEGAP GRPGSPGLPG MPGRSVSIGY LLVKHSOTDQ EPMCPVGMNK LMSGYSLLYF EGQEKAHNQD LGLAGSCLAR FSTMPFLYCN PGDVCCYASR NDKSYWLSTT APLPMMPVAE DEIKPYISRC SVCEAPAIAI AVHSQDVSIP HCPAGWRSBW IGYSFLMHTA AGDEGGGQSL VSPGSCLEDF RATPFIECNG GRGTCHYYAN KYSEWLTITP EQSFQGPSA DTLKAGLIRT HISRCQVCMK NL
11	Reticulocalbin	MEASALTSSA VTSVAKVVRV ASGSVVLP LARIATVVIGG VVMAAVPMV LSAMGFTAAG IASSIAAKM MSAAAIANGG GVASGSLVGT LQSLGATGLS GLTKFILGSI GSAIAAVIAR FY
12	Aldehyde dehydrogenase 6	MARGGRRL GLALGLLAL VLAPRVLRK PTVRKERVVR PDSSELGERPP EDNQSFQYDH EAFLGKEDSK TFDQLTPDES KERLGKIVDR IDNDGDGFVT TEELKTWIKR VQKRYIFDNV AKVWKDYDRD KDDKISWEEY KQATYGYILG NPAEFHDSSD HHTFKKMLPR DERRFKAADL NGDLTATREE FTAFLHPEEF EHMKEIVVLE TLEDIDKNGD GFVDQDEVIA DMFSHEENG EPDWWLSERE QFNEFRDLNK DGKLDKDEIR HWILPQDYDH AQAEARHLVY ESKNKDEKL TKEILENWN MFVGSQATNY GEDLTKNHDE L MATANGAVEN GQPDGKPPAL PRPIRNLEVK FTKIFINNEW HESKSGKKFA TCNPSTREQI CEVEEGDKPD VDKAVEAAQV AFQSGPWRR LDALSRGRLL HOLADLVERD RATLAALETM DTGKPFHLAF FIDLEGCIPT

**Belegexemplar**  
Dart nicht geändert werden



Belegexemplar  
Dart nicht geändert werden

12/15

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
13	Gravin	LYRFAGWADK IQGKTIPTDD NVVCFTRHEP IGVCGAITPW NFPLLMLVMK LAPALCCGNT MVLKPAEQTP LTALYLGSLI KEAGFPFGVW NIVPGFGPTV GAAISSHPQI NKIAFTGSTE VGKLVKEAAS RSNLKRVTLE LGGKNPCIVC ADADLDLAVE CAHQGVFFNQ GQCCTAASRV FVEEQVYSEF VRRSVEYAKK RPVGDPDFDVK TEQGPQIDQK QFDKILELIE SGKKEGAKLE CGGSAMEDKG LFIKPTVFSE VTDNMRIAKE EIFGPVQPIL KFKSIEEVIK RANSTDYGLT AAVFTKNLDK ALKLASALES GTVWINCYNALYAQAPFGGF KMSGNGRELG EYALAEYTEV KTVTIKLGDK NP MGAGSSTEQR SPEQPEGSS TPAEPEPSGG GPSAFAAPDT TADPAIAASD PATKLLQKNG QLSTINGVAE QDELSLQEGD LINGOKGALNG QGALNSQEEE EVIVTEVGQR DSEDVSRDS DKEMATKSAV VHDITDDGQE ENRNIEQIPS SESNLEELTQ PTESQANDIG FKKVPKFGVF KFTVKKDKTE KPDTVQLLTV KKDEGEGAAG AGDHQDPSLG AGEAAKSESE PKQSTEKPEE TLKREQSHAE ISPPAESGQA VEECKEKEE KQEKEPSKSA ESPTSPVTSE TGSTFKKFFT QGWAGWRKKT SFRPKKEDEV EASEKKKEQE PEKVDTEEDG KAEVASEKLT ASEQAHQPQP AESAHEPRLS AEYEKVELPS EEOVSGSQGP SEEKPAPLAT EVFDEKIEVH QEEVVAEVHV STVEERTEEQ KTEVEETAGS VPAEELVGMD AEPQAEPAK ELVLKETCV SGEDPTQCAD LSPDEKVLK PPEGVVSEVE MLSSQERMKV QGSPLKKLFT STGLKKLSGK KQKGRGGGD EESGEHTQVP ADSPDSQEEQ KGESSASSPE EPEEITCLEK GLAEVQQDGE AEEGATSDGE KKREGVTPWA SFKKMVTPKK RVRPSES DK EDELKVKSA TLLSSTESTAS EMQEEEMKGSV EEPKPEEPKR KVDTSVSWEA LICVSSSKKR ARRRSSSDEE GGPKAMGGDH QKADEAGKDK ETGTDGILAG SQEHDPGQGS SSPEQAGSPT EGEVSTWES FKRLVTPRKK SKSKLEEKSE DSIAGSGVEH STPDTEPGKE ESWSIKKFI PGRKRRPDG KQEQAPVEDA GPTGANEDDS DVPVAVPLSE YDAVEREKME AQQAQKGAEQ PEQKAATEVS KELSEQVHM MAAAADGTR AATIIERSP SWISASVTEP LEQVEAEAAAL LTEEVLREV IAEEPPPTVT EPLPENREAR GDTVVSEAE L TPEAVTAAET AGPLGSEEGT EASAAEETTE MVSAVSQLTD SPDTTTEATP VQVEGGVPD IEEQERRTQE VLQAVAEKVK

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		<p> EESQLPGTGG PEDVLQPVQR AEAERPEEQE EASGLKKETD VVLKVDAQEA KTEPFTQGVK VQOTTPESFE  KAPQVTESIE SSELVTTTQCA ETLAGVKSQE MVMEQAIPPD SVETPTDSET DGSTPVADFD APGTTQKDEI  VEIHEENEVA SGTQSGGTEA EAVPAQKERP PAPSSFVFQE ETKEQSKMED TLEHTDKEVS VETVSILSKT  EGTQEAQOYA DEKTKDVPPF EGLEGSIDTG ITVSREKVT E VALKGEETEE AECKKDDALE LQSHAKSPPS  PVEREMVVQV EREKTEAAPT HVNEEKLEHE TAVTVSEEV KOLLQTVNVP IIDGAKEVSS LEGSPPPCLG  QEEAVCTKIQ VQSSEASFTL TAAAEKKEVL GETANILETG ETLEPAGAH VLEEKSSSEKN EDFAAHPGED  AVPTGPDQCA KSTPVIVSAT TKKGLSSDLE GEKTTSLKWK SDEVDEQVAC QEVKVSVAIE DLEPENGILE  LETKSSKLQV NIIQTAVDQF VRTEETATEM LTSELQTAH VIKADSQDAG QETEKEGEEP QASAQDETPI  TSAKEESEST AVQAHS DIS KOMSEASEKT MTVEVEGSTV NDQQLLEVVL PSEEEGGGAG TKSVPEDDGH  ALLAERIETKS LVEPKEDEKG DDVDDPENQN SALADTDASG GLTKESPDTN GPKQKEKEDA QEVELQEGKV  HSESDKAITP QAQEELQKQE RESAKSELTE S </p>
14	Nidogen	<p> MLASSRIRA AWTRALLPL LLAGPVGCLS RQELFPFGPG QGDLELEDGD DFVSPALELS GALRFYDRSD  IDAVYVTNG IATSEPPAK ESHPGLFPPPT FGAVAPFLAD LDTTDGLGVK YYREDLSPSI TQRAAECVHR  GFPEISFQPS SAVVVTWESV APYQGPSRDP DQKGRNTFQ AVLASSDSSS YAIFLYPEDG LQFHTTFSKK  ENNVPAVVA FSQGSVGFLW KSNAYNIFA NDRESIENLA KSSNSGQGV WVFEIGSPAT TNGVVPADVI  LGTEDGAEYD DEDEDYDLAT TRLGLEDVGT TPFSYKALRR GGADTYSVPS VLSPPRAATE RPLGPPTERT  RSFQLAVETF HQHPQVIDV DEVEETGVVF SYNTDSRQTC ANNRHQCSVH AECDRYATGF CCSCVAGYTG  NGRQCVAEGS QRVNGKVKG RIFVGSSQVP IVFENTDLHS YVVMNHGRSY TAISTIPETV GYSLPLAPV  GGIIGWMAV EQDGFKNGFS ITGGEFTQQA EVTFVGHGPN LVIKQRFSGI DEHGHLTIDT ELEGRVPQIP </p>

**Belegexemplum**  
 Darf nicht geändert werden

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
15	Phospholipase Epsilon	FGSSVHIEPY TELYHYSTSV ITSSSTREYT VTEPERDGAS PSRIYTYQWR QTITFQECVH DDSRPALPST QQLSVDSV FV LYNQEEKILR YAFNSIGPV REGSPDALQN PCYIGTHGCD TNAACRP GPR TQFTCECSIG FRGDGRTCYD IDECSEQPSV CGSH TICNNH PGTFRCCEVE GYQFSDEGTC VAVVDQRPIN YCETGLHNCD IPQRAQCIYT GGSSYTC SCL PGFSGDGQAC QDVDECQPSR CHPDAFCYNT PGSFTCQCKP GYQGDGFRCV PGEVEKTRCQ HEREHILGAA GATDPQRPPI PGLFVPECDA HGHYAPTQCH GSTGYCWCVD RDGREVEGTR TRPGMTPPCL STVAPPIHQG PAVPTAVIPL PPGTHLLFAQ TGKIERLPLE GNTMRKTEAK AFLHVPKVI IGLAFDCVDK M VYWT DITEP SIGRASLHGG EPTTIIRQDL GSPEGIAVDH LGRNIFW TDS NLDRIEVAKL DGTQRRVLFE TDLVNPRGIV TDSVRGNLYW TDWRDNPKI ETSYMDGTNR RILVQDDLGL PNGLHFD AFS SQLCWVDAGT NRAECLNPSQ PSRRKALEGL QYPFAVTSYG KNLYFTDWKM NSVVALDLAI SKETDAFQPH KQTRLYGITT ALSQCPQGHN YCSVNNGGCT HLCLATPGSR TCRCPDNTLG VDCIERK MPSEKKISSA NDCISFMQAG CELKKVRPNS RIYNRFF TLD TDQLALR WEP SKKLEKAKL DISAIKEIRL GKNTETFTNN GLADQICEDC AFSILHGENY ESLDLVANSA DVANIWV SGL RYLVSRSKQP LDFMEGNQNT PRFMWLKTVF EAADVDGNGI MLEDTSVELI KQLNPTLKEA KIRLKFKEIQ KSKEKLITRV TEEEFCEAFC ELCTRPEVYF LLVQISKNKE YLDANDLMLF LEAEQGVTHI TEDICLDIIR RYELSEEGRQ KGFLAIDGFT QYLLSSECDI FDPEQKKVAQ DMTQPLSHVY INASHNTYLI EDQFRGPADI NGYIRALKMG CRSVELDVSD GSDNEPILCN RNNMTTHVSF RSVIEVINKF AFVASEYPLI LCLGNHCSLP QQKVMAQQMK KVFGNKLYTE APLPSES YLP SPEKLKRMII VKGKKLPSPD DVLEGEVTDE DEEAQMSRRM SVDYNGEQKQ IRLCRELSDL VSICKSVQYR DFELSMKSN YWEMCSFSET EASRIANEYP EDFVYNKKF LSRIYPSAMR IDSSNLNPQD FWNCGCQIVA MNFTPPGPM DLHTGWFLQN GGCGVLRPS IMRDEVS YFS ANTKGILPGV SPLALHIKII SGQNF PKPG ACAKGDVIDP YVCIEIHGIP ADCSEQRTKT VQONS DNPIF DETFEFQVNL PELAMIRFV LDDDYIGDEF IGQYTIPFEC LQGYRHVPL RSFVG DIMEH VTLFVHIAIT NRSGGKAQK RSLSVRMGKK

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		VREYTMLRNI GLKTIDDDIFK IAVHPLREAI DMRENMQNAI VSIKELCGLP PIASLKQCLL TLSSRLITSD NTPSVSLVMK DSFPYLEPLG AIPDVQKKML TAYDIMIQES RFLIEMADTV QEKIVQCQKA GMEFHEELHN IGAKEGLKGR KINKATESFA WNITVLKGOG DLLKNKNEA IENMKQIQLA CLSCGLSKAP SSSAEAKSKR SLEAIEEKES SEENGKL

## 5 Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Methode zur Diagnose von Endometriose wobei die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer Patientinnenprobe bestimmt wird.